

Departement für Nutztiere, Abteilung für Schweinemedizin  
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Leitung: Prof. Dr. med. vet. Heiner Bollwein

Arbeit unter wissenschaftlicher Betreuung von  
Prof. Dr. med. vet. Xavier Sidler

**Feldversuch zur Eradikation von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) mittels Bakteriophagen in einem Schweinebetrieb**

**Inaugural-Dissertation**

zur Erlangung der Doktorwürde der  
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

**Julia Honegger**

Tierärztin  
von Mels, SG

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. med. vet. Xavier Sidler, Referent

Prof. Dr. med. vet. Dr. h. c. Roger Stephan, Korreferent

**Zürich 2018**

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1. Einleitung.....</b>	<b>3</b>
<b>2. Material und Methoden.....</b>	<b>5</b>
2.1 Betriebsauswahl .....	5
2.2 Bakteriophagen-Herstellung.....	5
2.3 Probenverarbeitung im Labor.....	6
2.4 PCR-Nachweis der Bakteriophagen .....	6
2.5 Vorgehen Durchgang 1 .....	6
2.6 Vorgehen Durchgänge 2 und 3 .....	7
<b>3. Resultate .....</b>	<b>9</b>
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>13</b>
<b>5. Literaturliste.....</b>	<b>15</b>

Feldversuch zur Eradikation von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) mittels Bakteriophagen in einem Schweinebetrieb

## **Zusammenfassung**

Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) wurden in den letzten Jahren häufig bei Schweinen in Europa, Nordamerika und Asien nachgewiesen. Obwohl diese „livestock-associated“ MRSA nicht sehr pathogen für den Menschen sind, stellt der Kontakt mit MRSA ST398 kolonisierten Schweinen ein Übertragungsrisiko dar. Studien über Massnahmen zur Reduktion des Kolonisationsdruckes oder Eradikation von MRSA gibt es nur wenige. In der Humanmedizin konnte MRSA durch den Einsatz von Bakteriophagen sehr erfolgreich bekämpft werden. Deshalb wurde in der vorliegenden Studie der Effekt des Einsatzes von Bakteriophagen auf die MRSA Schleimhautbesiedelung in einem Schweinebetrieb mit hoher MRSA-Prävalenz untersucht. In einem ersten Versuch wurden von Geburt an Muttersauen und Ferkel bis Beginn Mast mit Bakteriophagen behandelt, in den weiteren Versuchen nur noch Absetzferkel. Die Phagen wurden auf die Haut, Schleimhaut und im Futter appliziert (Versuch 1) bzw. in einem Raum vernebelt und zusätzlich via Dosatron® dem Tränkewasser zugefügt (Versuche 2 und 3). In keinem der Versuche konnte eine Reduktion der MRSA-Kolonisationsprävalenz festgestellt werden.

Schlüsselwörter: Schwein, MRSA ST398, Bakteriophagen, Eradikation, Kolonisationsprävalenz

Field study for the eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) using bacteriophages in a pig farm

## **Abstract**

In recent years, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) has been found frequently in pigs in Europe, North America and Asia. Although „livestock-associated“ MRSA are not very pathogenic to humans, contact with MRSA ST398 colonized pigs poses a transmission risk. There are only few studies on intervention strategies to reduce the colonization pressure or eradicate MRSA in pig farms. In human medicine, MRSA have been successfully combated by the use of bacteriophages. Therefore, the present study investigated the effect of bacteriophages on mucosal colonization of MRSA in a pig farm with high MRSA prevalence. In a first trial, sows and piglets were treated with bacteriophages from birth until the beginning of fattening and in further experiments only weaned piglets. The phages were applied on the skin, mucous membrane and in the feed (test 1) or nebulized in a room and additionally added to the drinking water via Dosatron® (trial 2 and 3). None of the experiments showed a reduction in the MRSA colonization prevalence.

Keywords: pig, MRSA ST398, bacteriophages, eradication, colonization prevalence

## 1. Einleitung

Methicillin-resistente *Staphylococcus (S.) aureus* (MRSA) sind ein ernstes Problem in der Humanmedizin und belasten die Gesundheitskosten in grossem Masse <sup>12</sup>. Aufgrund des weit verbreiteten Vorkommens resistenter Stämme wird die Behandlung von Staphylokokken-Infektionen mit Antibiotika immer schwieriger und es wird daher nach alternativen Möglichkeiten gesucht.

Bei Tieren wurden MRSA vor 45 Jahren zum ersten Mal beschrieben, jedoch traten Erkrankungsfälle nur sporadisch auf <sup>14</sup>. Im Jahre 2005 wurde zum ersten Mal ein „livestock-associated“ MRSA (LA-MRSA) ST398 sowohl bei Schweinen als auch bei Menschen isoliert <sup>43</sup>. Mittlerweile häufen sich vor allem bei Nutztieren Berichte über die Isolierung von LA-MRSA <sup>13,18,20,22,28,34,38,44</sup>. Obwohl LA-MRSA bisher nicht sehr pathogen für Menschen sind, stellt der Kontakt mit MRSA ST398 kolonisierten Schweinen ein Risiko für eine Kolonisation oder Infektion für den Menschen dar <sup>19,21,24,36,37,43</sup>. Die Intensität des Tierkontaktes und die MRSA-Herdenprävalenz ist sehr stark mit der LA-MRSA Kolonisation beim Menschen assoziiert <sup>17</sup>.

LA-MRSA können bei Schweinen einerseits durch direkten Tier-zu-Tier-Kontakt – horizontal und vertikal – und andererseits auch indirekt übertragen werden <sup>12</sup>. Verschiedene Risikofaktoren begünstigen die Übertragung und Verbreitung von MRSA. Dazu gehören Zukauf von MRSA-positiven Schweinen in negative Zucht- und Mastbetriebe, hohe Tierdichte, grosse Tierherden, Produktionstyp sowie der Kolonisierungsstatus der Muttersau <sup>4,6-9,13,35,38,41,46</sup>. Zur indirekten Erreger-Verschleppung können verschiedene Vektoren wie Personen, Haus-, Nage- und Nutztiere sowie Pferde beitragen <sup>12</sup>. Auch in Staub, in Luftproben innerhalb und ausserhalb des Stalles, in Futtertrögen und Wassertränken, im Kot und an Buchtenwänden können MRSA überleben und somit eine Kontaminationsquelle darstellen <sup>3,15,21,33,41</sup>. Eine Mensch-zu-Mensch-Übertragung von MRSA ST398 ist möglich, wurde bisher jedoch selten beschrieben <sup>12</sup>.

In der Schweiz wurden im Jahr 2009 zum ersten Mal MRSA ST398 aus Nasentupfern von Schlachtschweinen isoliert <sup>19</sup>. Seither nimmt die Kolonisationsprävalenz von Jahr zu Jahr von 2% im Jahre 2009 auf rund 26.5% im Jahre 2014 zu. Dies obwohl der Antibiotikumverbrauch im gleichen Zeitraum um 28% abgenommen hat <sup>1</sup>. Diese Zunahme der MRSA ST398 Prävalenz ist in erster Linie auf den uneingeschränkten Handel von kolonisierten Tieren zurückzuführen. Bangerter et al., (2016) zeigten auf, dass während des Transportes zum Schlachthof von MRSA-negativen zusammen mit MRSA-positiven Tieren,

bei rund 20% der vor dem Verlad negativ getesteten Schweine beim Ausladen aus dem Transporter ebenfalls MRSA nachgewiesen werden konnte <sup>5</sup>.

Über Massnahmen zur Reduktion von MRSA in Schweineställen sind bisher wenige Studien publiziert. Alleiniges Waschen trächtiger Sauen vor dem Umstallen in den Abferkelstall trug nicht zur Reduktion von MRSA bei <sup>40</sup>. Waschen mit Shampoo sowie Desinfektion mit einer Lösung aus Chlorhexidine-Diglukonat und Isopropanol führte zu einer signifikanten Reduktion der MRSA-Kolonisation, jedoch war dies nur von kurzer Dauer <sup>31</sup>. In der Humanmedizin hingegen konnte durch Implementierung von Hygienemassnahmen sowie durch den Einsatz von Enzymen oder Bakteriophagen, respektive antibiotischen Salben, MRSA sehr erfolgreich bekämpft werden <sup>11,29</sup>. In experimentellen Infektionen bei Tieren konnten Bakteriophagen, welche gegen *S. aureus* gerichtet sind, den Erreger *in vivo* abtöten <sup>27,32</sup>. Zudem werden Bakteriophagen auch in der Lebensmittelproduktion zur Bekämpfung von *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 und *Salmonella enterica* eingesetzt <sup>30</sup>. In der Literatur wird dem Einsatz von Bakteriophagen ein grosses Potential nachgesagt, um die MRSA-Prävalenz zu senken beziehungsweise auszumerzen.

Bakteriophagen sind in der Umwelt sehr häufig anzutreffen und können die Quelle kostengünstiger antimikrobieller Mittel sein <sup>26</sup>. Eine erfolgreiche Phagentherapie erfordert eine Interaktion zwischen dem Phagen und dem Bakterium, die zu einer Adsorption des Phagen an das Wirtsbakterium führt, gefolgt von einer Injektion der Phagen-DNA. Es folgt ein Phagenreplikationszyklus mit, bei lytischen Phagen, anschliessender Zelllyse und Freisetzung mehrerer Phagenvirionen. Gill und Hyman (2010) und Weber-Dabrowska et al., (2016) geben einen Überblick über die wichtigsten Aspekte der Phagenauswahl, Isolierung und Reinigung für die Phagentherapie <sup>16,45</sup>.

Da durch den Handel von MRSA kolonisierten Schweinen ein grosses Risiko für die Weiterausbreitung ausgeht, wurden in einem Schweinebetrieb mit hoher MRSA-Kolonisationsprävalenz MRSA-assoziierte Bakteriophagen bei Muttersauen, Saug- und Absetzferkel eingesetzt und der Kolonisierungsstatus regelmässig bis zum Verkauf in die Mast untersucht.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Betriebsauswahl**

Die Feldstudie wurde in einem geschlossenen Zucht-Mastbetrieb mit einer MRSA-Kolonisierungsprävalenz bei den verschiedenen Alterskategorien von 50-90% durchgeführt <sup>5</sup>. Der Betrieb umfasste 100 Muttersauen-, 320 Absetz- und 200 Zuchtplätze. Im 3-Wochen-Rhythmus ferkelten 10-14 Sauen ab und die Ferkel wurden nach 28 Tagen Säugezeit abgesetzt. Die abgesetzten Ferkel wurden in einen gereinigten Ferkelaufzuchtstall umgestallt und im Alter von 10 Wochen an einen Mäster verkauft oder verblieben als Nachzuchttiere auf dem Betrieb.

### **2.2 Bakteriophagen-Herstellung**

Der verwendete Phagencocktail wurde im Phagen Technologie Center (PTC), Bönen, Deutschland hergestellt. Dieser gegen *S. aureus* wirkende Phagencocktail bestand aus zwei genetisch unabhängigen Bakteriophagen, STA1 (Myoviridae) und EB1 (Podoviridae), beides Eigenisolate der PTC. STA1 stammt aus der Abwasserreinigungsanlage der Stadt Hamm, EB1 stammt aus Schweinekot aus einem Absetzferkelstall in NRW. Beide Bakteriophagen wurden jeweils auf verschiedenen Wirtsstämmen angezüchtet, um dadurch den Wirtsbereich des Cocktails zu erweitern. Bei den Wirtsstämmen handelt es sich um *S. aureus* Stamm 11, welcher als CC398 typisiert und aus einer Mastitsmilch einer Kuh isoliert wurde; Stamm 27, welcher zum klonalen Komplex CC479 gehört und ebenfalls aus einer Kuh mit Mastitis isoliert wurde; sowie Stamm 29, ein Humanisolat zum klonalen Komplex CC22 gehörend und Stamm 107, welcher aus einem Versuchsbetrieb des PTC stammte.

Der Phagencocktail war zusammengesetzt aus STA1.ST27, STA1.ST29, EB1.ST11 und EB1.ST107. Diese vier Komponenten wurden einzeln hergestellt. Dazu wurde ein 100 Liter Fermenter mit 100 Liter steriler Nährlösung befüllt und die Nährlösung mit einer Übernachtskultur beimpft. Die Bakterien wurden bei 37°C unter Zuführung von Sauerstoff und konstantem Rühren bis zu einer Zelldichte von etwa  $2 \times 10^8$  KBE/ml angezogen. Unter diesen Bedingungen wachsen die Staphylokokken exponentiell und liefern die Grundlage für eine optimale Vermehrung der Bakteriophagen. Die Bakteriophagen wurden dann mit einer MOI (multiplicity of infection) von 5 zugegeben, also fünf Bakteriophagen pro Bakterienzelle. Damit kann erreicht werden, dass gemäss Poissonverteilung etwa 99% der Bakterien mindestens durch einen Bakteriophagen infiziert sind. Infizierte Bakterien stellen ihr Wachstum ein und produzieren stattdessen Bakteriophagen. Nach etwa einer Stunde

Inkubation lysieren die Bakterienzellen und entlassen die Nachkommen ins Nährmedium, wo sie in einem mehrstufigen Filtrationsverfahren geerntet und gereinigt werden <sup>2</sup>. Als Endprodukt entsteht ein steriles Intermediat mit einer Konzentration von etwa  $5 \times 10^9$  PFU/ml (plaque forming units per milliliter), welches in PBS (phosphate buffered saline) gepuffert wird. Die oben beschriebenen vier Komponenten wurden dann im Verhältnis 1:1:1:1 zum fertigen Cocktail gemischt.

Nach mehrmaliger Überprüfung der Bakteriophagenkonzentration wurde festgestellt, dass die Lösung instabil war und die Konzentration kontinuierlich abnahm. Deshalb wurde eine neue Charge mit einem anderen Puffer und erhöhter Phagenkonzentration von  $10^{10}$  PFU/ml erstellt. Diese Charge wurde ab dem Durchgang 2 eingesetzt und wöchentlich mittels Titrierung auf die Stabilität überprüft.

### **2.3 Probenverarbeitung im Labor**

Zu jedem Tupfer wurde Müller-Hinton-Broth mit 6.5% NaCl hinzugefügt und bei 37°C für 24 Stunden inkubiert. Im nächsten Schritt wurde 1 ml der inkubierten Bouillon zu 5 ml Trypton-Soja-Broth mit Zusatz von 75 mg/l Aztreonam und 3.5 mg/l Cefoxitin gegeben und erneut für 24 Stunden bei 37°C bebrütet. Danach wurde diese Bouillon mit einer Einmalöse auf MRSA2-Platten (Oxoid, Basel, Schweiz) ausgestrichen und ebenfalls für 24 Stunden bei 37°C inkubiert.

### **2.4 PCR-Nachweis der Bakteriophagen**

Von am Ende des Versuches entnommenen Umgebungstupfern wurde am Virologischen Institut der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich DNA isoliert (Qiagen DNA mini kit), welche in einer PCR auf die Anwesenheit von STA1 und EB1 DNA getestet wurde. Die Primersequenzen wurden vom PTC zur Verfügung gestellt und waren spezifisch für die eingesetzten Phagen.

### **2.5 Vorgehen Durchgang 1**

Auswahl der Tiere:

Zur Eruiierung des MRSA-Status wurden bei einer ersten Probenentnahme alle 99 Muttersauen auf das Vorkommen von MRSA untersucht. Die nächste Probenentnahme folgte eine Woche vor Geburt, jedoch nur noch bei 14 Sauen (7 MRSA-positive und 7 MRSA-negative Sauen). Schliesslich wurden davon 3 MRSA-positive und 3 MRSA-negative Sauen und deren Ferkel in den Versuch aufgenommen. Die Ferkel wurden in der Säugezeit sowie



nach dem Absetzen (28. LT) bis zum Verkauf in die Mast (10. LW) 2-mal wöchentlich beprobt, während die Sauen nur während der Säugezeit beprobt wurden.

#### Probenerhebung:

Für die Probenerhebung wurden die Muttersauen von einem Helfer mittels Oberkieferschlinge fixiert, während die Ferkel auf den Armen gehalten werden konnten. Von den Muttersauen wurden jeweils ein Nasen-, Rektal-, Vaginal- und Zitzenhauttupfer entnommen. Saug- bzw. Absetzferkel wurden nur nasal und rektal beprobt. Für die Zitzenhaut wurden sterile Tupfer mit NaCl befeuchtet und das Gesäuge damit abgestrichen. Zusätzlich wurden zu jedem Zeitpunkt auch Umgebungsproben von der Buchtenwand, der Kotplatte, dem Futtertrog und vom Ferkelnest entnommen. Bei diesen Proben wurden die sterilen Tupfer mit NaCl befeuchtet und entlang den Flächen abgestrichen. Die Proben wurden direkt ins Labor gebracht und weiterbearbeitet.

#### Bakteriophagenverabreichung:

Beim ersten Durchgang erhielten die Muttersauen der Positiv-Gruppe eine Woche vor Geburt bis zum Absetzen bei der Morgenfütterung 10 ml des Bakteriophagencocktails übers Futter verabreicht. Eine Woche vor der Geburt wurden die Sauen mit dem Hochdruckreiniger gewaschen und bei den positiven Sauen Maul, Nase und Vagina mit der 1:1000 verdünnten Bakteriophagenlösung gespült sowie die Hautoberfläche mit einem Handsprühergerät eingesprüht. Während der Säugezeit wurden die MRSA-positiven Sauen und deren Ferkel nach der Probenentnahme eingesprüht. Zusätzlich wurde den Ferkeln ab dem 4. Lebenstag Starter- bzw. Ferkelfutter ad libitum angeboten, bei welchem nach dem Hygienisierungsprozess in der Futtermühle 10 Liter Bakteriophagenlösung/1000 kg Futter aufgesprüht wurde. Die abgesetzten Ferkel von MRSA-positiven Sauen wurden auch während der Absetzphase wöchentlich mit dem Bakteriophagencocktail besprüht und erhielten bakteriophagenhaltiges Futter (10 L/1000 kg) ad libitum. Die Tiere in der Negativ-Gruppe wurden zu keiner Zeit mit Phagen behandelt.

## **2.6 Vorgehen Durchgänge 2 und 3**

In den folgenden zwei Durchgängen wurden insgesamt 84 Absetzferkel in einen kontrolliert MRSA-negativen Absonderungsstall eingestallt. Die Bakteriophagen wurden in diesen Umtrieben via Dosatron® in einer Konzentration von 0.3% im Umtrieb 2 resp. 3% im Umtrieb 3 dem Trinkwasser zugeführt. Zusätzlich wurde in beiden Umtrieben der 30 m<sup>3</sup>

grosse Raum 3-mal täglich während 15 Minuten mit einer „ZELJET Trolley“ Vernebelungs-Anlage vernebelt. Pro Tag wurden ca. 2.5 l Flüssigkeit vernebelt. In beiden Umtrieben wurden die Ferkel durchschnittlich mit 28 Tagen abgesetzt und alle Versuchsferkel wöchentlich bis zur 9./10. Lebenswoche beprobt. Ebenso wurden wöchentlich Umgebungsproben entnommen.

### 3. Resultate

Die MRSA-Kolonisationsprävalenz aller im Betrieb vorhandenen Muttersauen im Mai 2016 betrug 44%. Beim Einstellen von 14 Muttersauen in den Abferkelstall, 1 Woche vor dem Abferkeltermin, bestand die Versuchsgruppe aus 7 MRSA-positiven und 7 MRSA-negativen Muttersauen. Von den 7 MRSA-negativen Sauen behielten 3 ihren Status, während die anderen 4 während der Sägezeit ebenfalls mit MRSA kolonisiert wurden. Ausserdem wechselte eine Sau aus der Positiv-Gruppe in die Negativ-Gruppe, so dass 10 Sauen MRSA-positiv und 4 Sauen MRSA-negativ waren. Während der Sägezeit änderte sich der MRSA-Status der ursprünglich positiven Muttersauen hin und wieder, wobei die Nachweisstelle von MRSA variabel war (Nase, Rektum, Vagina, Zitzenhaut). Ebenfalls wurden die zu Beginn negativen Muttersauen mit MRSA kolonisiert, wovon 2 der Sauen während der gesamten Sägezeit positiv waren und dies an 3-4/4 Lokalisationen. In Tab. 1a sind die Anzahl MRSA-positiver bzw. MRSA-negativer Muttersauen sowie deren Lokalisationsstelle zusammengestellt.

Tabelle 1a: MRSA-Status der Sauen (Durchgang 1)

2016	23.05.	22.06.	04.07.	07.07.	11.07.	14.07.	18.07.	21.07.	25.07.	28.07.
(n) Sauen +	3	3 (2/1/1/2)*	4 (2/0/1/4)	6 (4/0/2/6)	6 (5/3/3/5)	5 (4/2/3/5)	6 (4/3/4/5)	6 (6/1/5/5)	6 (3/2/2/6)	4 (3/2/1/4)
(n) Sauen -	3	3	2	0	0	1	0	0	0	1

\*(Nase/Rektum/Vagina/Zitzenhaut)

Von den 36 Saugferkeln der 3 MRSA-positiven Sauen waren wenige Tage nach der Geburt 33 ebenfalls mit MRSA kolonisiert und nur 3 wiesen einen negativen MRSA-Status auf (Tab. 1b). 32/33 Saugferkel waren in der Nase positiv, während 12/33 gleichzeitig auch im Rektaltupfer positiv waren und 1 Ferkel nur im Darm mit MRSA kolonisiert war. Neun Saugferkel waren während der gesamten Sägezeit mit MRSA kolonisiert, die restlichen hatten einen wechselnden Kolonisierungsstatus.

Tabelle 1b: MRSA-Status der Saugferkel aus der Positiv-Gruppe (Durchgang 1)

2016	04.07.	07.07.	11.07.	14.07.	18.07.	21.07.	25.07.	28.07.
(n) Saugferkel +	33 (20/1/12) <sup>o</sup>	29 (22/1/6)	26 (16/4/6)	22 (19/1/2)	19 (16/0/3)	24 (20/0/4)	22 (20/1/1)	9 (8/1/0)
(n) Saugferkel -	3	6	7	11	13	7	9	22

<sup>o</sup> (Nase/Rektum/Nase und Rektum)

Bei den Saugferkeln der ursprünglich MRSA-negativen Sauen waren wenige Tage nach der Geburt bereits 23/37 Saugferkel in der Nase mit MRSA kolonisiert, davon 10

zusätzlich im Darm (Tab. 1c). Fünfzehn Saugferkel waren während der gesamten Säugezeit mit MRSA kolonisiert.

Tabelle 1c: MRSA-Status der Saugferkel aus der Negativ-Gruppe (Durchgang 1)

2016	04.07.	07.07.	11.07.	14.07.	18.07.	21.07.	25.07.	28.07.
(n) Saugferkel +	23 (13/0/10) <sup>o</sup>	33 (16/2/15)	31 (5/1/25)	23 (6/0/17)	25 (7/2/16)	29 (9/3/17)	25 (6/2/17)	22 (9/1/12)
(n) Saugferkel -	14	3	5	12	10	6	10	13

<sup>o</sup> (Nase/Rektum/Nase und Rektum)

Am Tag des Absetzens waren aus der Positiv-Gruppe nur noch 9 Ferkel MRSA-positiv (Tab. 1b), jedoch änderte sich dies wenige Tage später wieder. Während den ersten 3 Wochen nach dem Absetzen waren immer  $\geq 20$  von 31 Absetzferkeln mit MRSA kolonisiert (Tab. 1d).

Tabelle 1d: MRSA-Status der Absetzferkel aus der Positiv-Gruppe (Durchgang 1)

2016	02.08.	04.08.	08.08.	11.08.	15.08.	18.08.
(n) Absetzferkel +	27 (22/1/4) <sup>o</sup>	24 (18/0/6)	24 (18/2/4)	20 (17/0/3)	29 (19/4/6)	25 (21/1/3)
(n) Absetzferkel -	4	7	7	11	2	6

<sup>o</sup> (Nase/Rektum/Nase und Rektum)

In der Negativ-Gruppe waren zum Zeitpunkt des Absetzens im Wurf 1 3/13, im Wurf 2 11/13 bzw. im Wurf 3 8/9 Ferkel MRSA-positiv (Tab. 1c). In den ersten 3 Wochen der Absetzphase waren praktisch alle Ferkel während der gesamten Zeit mit MRSA kolonisiert (Tab. 1e).

Tabelle 1e: MRSA-Status der Absetzferkel aus der Negativ-Gruppe (Durchgang 1)

2016	02.08.	04.08.	08.08.	11.08.	15.08.	18.08.
(n) Absetzferkel +	33 (20/1/12) <sup>o</sup>	34 (24/1/9)	32 (28/1/3)	28 (21/1/6)	33 (23/0/10)	33 (27/0/6)
(n) Absetzferkel -	1	0	2	6	1	1

<sup>o</sup> (Nase/Rektum/Nase und Rektum)

Über die gesamte Studiendauer hinweg waren 9 Ferkel dauerhaft mit MRSA kolonisiert und je 10 Ferkel waren immer bis auf ein bzw. zwei Mal mit MRSA kolonisiert. Kein einziges Ferkel war während der gesamten Dauer negativ. Aufgrund des mangelnden Erfolges wurde entschieden, diesen Versuch frühzeitig zu beenden.

Für den 2. Versuchsdurchgang wurde eine Woche vor dem Absetzen der MRSA-Status von 56 Ferkeln, stammend von 5 positiven Muttersauen, überprüft. Zu diesem Zeitpunkt waren 25 Ferkel mit MRSA kolonisiert (Tab. 2a). Beim Absetzen wurden die Ferkel in einen kontrolliert MRSA-freien Versuchsraum umgestallt. Am Absetztag waren 11

von 44 Ferkel mit MRSA kolonisiert, während am Ende des Versuchs bis auf ein Ferkel alle einen MRSA-positiven Status aufwiesen (Tab. 2b). In diesem Durchgang wurde während der ganzen Versuchsphase 0.3% des Bakteriophagencocktails via Dosatron® dem Trinkwasser zugemischt und der Versuchsraum 3-mal täglich während 15 Minuten mit der Bakteriophagenlösung vernebelt.

Tabelle 2a: MRSA-Status der Saugferkel (Durchgang 2)

2017	11.01.
(n) Saugferkel +	25 (20/0/5) <sup>0</sup>
(n) Saugferkel -	31

<sup>0</sup>(Nase/Rektum/Nase und Rektum)

Tabelle 2b: MRSA-Status der Absetzferkel (Durchgang 2)

2017	16.01.	23.01.	30.01.	06.02.	13.02.
(n) Absetzferkel +	11 (8/2/1) <sup>0</sup>	44 (19/0/25)	35 (32/0/3)	32 (26/0/6)	43 (29/0/14)
(n) Absetzferkel -	33	0	9	12	1

<sup>0</sup>(Nase/Rektum/Nase und Rektum)

Beim 3. Durchgang wurde dem Trinkwasser 3% der Bakteriophagenlösung zugemischt. Am Absetztag war nur 1 von 40 Ferkeln in der Nase mit MRSA kolonisiert (Tab. 3). Dies war auch eine Woche später der Fall. Vier Wochen später, kurz vor dem Verkauf an den Mäster, waren alle Tiere MRSA negativ.

Tabelle 3: MRSA-Status der Absetzferkel (Durchgang 3)

2017	23.05.	30.05.	26.06.
(n) Absetzferkel +	1 (1/0/0) <sup>0</sup>	1 (0/1/0)	0 (0/0/0)
(n) Absetzferkel -	39	39	40

<sup>0</sup>(Nase/Rektum/Nase und Rektum)

Auch aus den Umgebungsproben konnten MRSA isoliert werden. Wie in Tabelle 4 ersichtlich ist, konnte beim Versuch 1 sowohl in der Bucht der Positiv- als auch in der Bucht der Negativ-Gruppe MRSA nachgewiesen werden. Beim 2. Versuch wurden jeweils 12 Stellen der Umgebung beprobt, jedoch konnte zum Zeitpunkt des Absetzens keine MRSA isoliert werden (Daten nicht aufgezeigt). Eine Woche später waren jedoch alle 12 entnommenen Tupfer MRSA positiv und dies blieb praktisch bis zum Ende so. Im 3. Durchgang wurde nur zum Zeitpunkt zwei eine Tränke positiv auf MRSA getestet (Daten nicht aufgezeigt).

Tabelle 4: MRSA-Nachweis in Umgebungsproben (Durchgang 1)

	Positive Bucht				Negative Bucht			
	Kotplatte	Buchtenwand	Futtertrog	Ferkelnest	Kotplatte	Buchtenwand	Futtertrog	Ferkelnest
04.07.2016	+	+	-	+	-	+	-	-
07.07.2016	-	-	+	+	+	+	+	+
11.07.2016	+	-	+	-	-	-	+	-
14.07.2016	+	-	+	+	+	+	+	+
18.07.2016	+	+	+	-	+	-	+	+
21.07.2016	+	+	+	-	+	+	+	+
25.07.2016	+	+	+	+	-	-	-	+
28.07.2016	+	+	+	+	+	-	+	+
02.08.2016	+	+	+	+	+	+	+	+
04.08.2016	+	+	-	+	+	+	+	+
08.08.2016	+	+	-	+	+	+	+	-
11.08.2016	+	+	+	+	-	+	+	+
15.08.2016	+	+	+	+	+	-	+	+
18.08.2016	+	+	+	+	+	+	-	+

+ MRSA nachweisbar; - MRSA nicht nachweisbar

## 4. Diskussion

Die direkte Übertragung von LA-MRSA ST398 von Schwein zu Schwein ist sehr leicht möglich und ist somit vermutlich das Hauptrisiko für eine Ausbreitung von MRSA innerhalb der Schweinepopulation <sup>5</sup>. Diese Übertragungskette kann nur wirkungsvoll unterbunden werden, wenn es gelingt die Schweine vor dem Verkauf in die Mast auf dem Ferkelerzeugungsbetrieb zu dekolonisieren.

Der eingesetzte Bakteriophagencocktail zeigte *in vitro* eine sehr gute Wirkung gegen MRSA-Kolonien aus dem Versuchsbetrieb. Trotz verschiedener Applikationsarten des Bakteriophagencocktails in den einzelnen Durchgängen konnte dann im Feldversuch ausser im Durchgang 3, wo dem Trinkwasser 3% des Bakteriophagencocktails zugemischt wurde, keine MRSA-Eradikation in der Nase resp. im Darm erreicht werden. Der mangelnde Erfolg im ersten Umgang kann mit einer wöchentlich um 1 log-Stufe abfallenden Bakteriophagenkonzentration erklärt werden. Trotz vielversprechender *in vitro* Tests konnte auch mit einem neuen Bakteriophagencocktail, welcher höher konzentriert und anders gepuffert, sowie laufend einer Stabilitätskontrolle unterzogen wurde, keine Eradikation oder ein Rückgang der Kolonisationsprävalenz zu den Messzeitpunkten erreicht werden. Ähnliche Resultate wie in der vorliegenden Studie wurden auch schon von Verstappen et al., (2016) berichtet, welche die Wirksamkeit einer Bakteriophagenkombination bestehend aus den Phagen K\*170 und P68 in einer Konzentration von  $10^9$  PFU untersuchten <sup>42</sup>. Die Ergebnisse *in vitro* zeigten, dass das Bakterienwachstum durch die Phagen verhindert werden konnte, jedoch blieb der Effekt des Bakteriophagen-haltigen Gels bei experimentell mit MRSA infizierten Schweinen aus. Ebenfalls erfolglos war der Versuch auf MRSA-kolonisierten Schleimhaut-Explantaten. Es wurden aber auch schon Studien publiziert, in denen eine Wirkung von Bakteriophagen auf *S. aureus in vivo* aufgezeigt werden konnte.

Die Eradikation von MRSA im 3. Umgang muss kritisch betrachtet werden, da in dieser Versuchsgruppe nur 1 von 40 Ferkeln mit MRSA kolonisiert war. Es ist aber nicht auszuschliessen, dass der Einsatz des Bakteriophagencocktails mit der Zeit zu einer Anreicherung der Bakteriophagen im Betrieb geführt hat und die Reduktion des MRSA-Kolonisationsdruckes verzögert stattfand. Auffällig war, dass es zwischen dem 1. und 2. Durchgang sowie zwischen dem 2. und 3. Durchgang je einen Durchgang mit 40 beprobten Ferkeln gab, in denen kein einziges Tier mit MRSA kolonisiert war. Die positiven Resultate der spezifischen PCR-Untersuchungen von Umgebungsproben, welche am Ende aller Versuche nach der Reinigung der Stallungen entnommen wurde, zeigten, dass die

Bakteriophagen den Gastrointestinaltrakt passiert hatten und von den Schweinen ausgeschieden wurden.

Die Phagentherapie hat gegenüber der konventionellen Antibiotikumtherapie einige Vorteile <sup>25</sup>. Phagen können sich innerhalb von Bakterienzellen vermehren und so ihre Anzahl am Ort der Infektion/Kolonisation erhöhen <sup>10,26</sup>. Dazu ist jedoch eine ausreichend hohe Bakteriendichte erforderlich <sup>23,25,26</sup>. Sie weisen eine hohe Spezifität auf, so dass die eingesetzten Phagen nur auf die Zielerreger gerichtet sind, ohne die normale Mikroflora zu stören <sup>23,25,26,39</sup>. Zudem sind sie sowohl gegen antibiotikasensitive als auch gegen antibiotikaresistente Bakterien wirksam <sup>25</sup>. Aufgrund des engen Wirtsbereichs der Phagen ist das Risiko der Entstehung Phagen-resistenter Bakterien geringer, vor allem beim Einsatz eines Bakteriophagencocktails <sup>25,26</sup>. Ein weiterer Vorteil ist, dass Phagen fähig sind, Biofilme zu zerstören und die darin enthaltenen Bakterien abzutöten <sup>23,25,26</sup>.

Als Nachteile anzusehen ist der Verlust der Phagenaktivität während der Formulierung und Lagerung sowie die Phageninaktivierung aufgrund der Umgebung in vivo, wie z.B. der saure pH-Wert des Magens oder enzymatische Aktivitäten <sup>26</sup>. Durch Zugabe von Hilfsstoffen oder durch Gefriertrocknung oder Sprühtrocknung kann die Stabilität jedoch erhöht werden und durch Verkapselung können die Phagen von natürlichen Prozessen des biologischen Systems geschützt werden <sup>26,39</sup>.

Malik et al., (2017) berichteten, dass hohe Anfangskonzentrationen von Bakterien vorhanden sein müssen, um das Bakterienwachstum durch Verabreichung hoher Phagen-Dosen rasch zu stoppen <sup>26</sup>. Sind jedoch nur niedrige Anfangskonzentrationen von Bakterien vorhanden, so zerfallen die Phagenkonzentrationen und die Phagen sind nicht fähig sich zu vermehren und eine ausreichend hohe Konzentration zu erreichen um die infizierenden Bakterien abzutöten. Werden die Phagen prophylaktisch zu früh vor einer Infektion oder zu Beginn einer Infektion, wenn die Keimkonzentration gering ist, verabreicht, kommt es zu einer Entfernung der Phagen durch das Wirtsimmunsystem oder durch andere Mechanismen und somit zu einer Absenkung der Phagenkonzentration.

## Fazit

Auch wenn der Einsatz eines Bakteriophagencocktails unter Feldbedingungen im Beobachtungszeitraum zu keiner vollständigen Eradikation von MRSA bei den Versuchstieren führte, kann eine Langzeitwirkung nicht ausgeschlossen werden, da mittels PCR massenhaft Bakteriophagen-DNA in Umgebungstupfer festgestellt werden konnte.



## 5. Literaturliste

1. <ARCH-Vet\_2014\_2015-10-13\_final-1.pdf>.
2. <EP2195418B1.pdf>.
3. Analysis of the baseline survey on the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in holdings with breeding pigs, in the EU, 2008 - Part A: MRSA prevalence estimates. EFSA Journal 2009: 7(11): 1376.
4. Alt K, Fetsch A, Schroeter A, Guerra B, Hammerl JA, Hertwig S, et al.: Factors associated with the occurrence of MRSA CC398 in herds of fattening pigs in Germany. BMC Vet Res 2011: 7: 69.
5. Bangerter PD, Sidler X, Perreten V, Overesch G: Longitudinal study on the colonisation and transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farms. Vet Microbiol 2016: 183: 125-134.
6. Broens EM, Espinosa-Gongora C, Graat EA, Vendrig N, Van Der Wolf PJ, Guardabassi L, et al.: Longitudinal study on transmission of MRSA CC398 within pig herds. BMC Vet Res 2012: 8: 58.
7. Broens EM, Graat EA, Van der Wolf PJ, Van de Giessen AW, De Jong MC: Prevalence and risk factor analysis of livestock associated MRSA-positive pig herds in The Netherlands. Prev Vet Med 2011: 102(1): 41-49.
8. Broens EM, Graat EA, Van der Wolf PJ, Van de Giessen AW, De Jong MC: Transmission of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among pigs during transportation from farm to abattoir. Vet J 2011: 189(3): 302-305.
9. Broens EM, Graat EA, van der Wolf PJ, van de Giessen AW, van Duijkeren E, Wagenaar JA, et al.: MRSA CC398 in the pig production chain. Prev Vet Med 2011: 98(2-3): 182-189.
10. Carlton RM: Phage therapy: past history and future prospects. Arch Immunol Ther Exp (Warsz) 1999: 47(5): 267-274.
11. Cederna JE, Terpenning MS, Ensberg M, Bradley SF, Kauffman CA: *Staphylococcus aureus* nasal colonization in a nursing home: eradication with mupirocin. Infect Control Hosp Epidemiol 1990: 11(1): 13-16.
12. Crombe F, Argudin MA, Vanderhaeghen W, Hermans K, Haesebrouck F, Butaye P: Transmission dynamics of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs. Front Microbiol 2013: 4: 57.
13. de Neeling AJ, van den Broek MJ, Spalburg EC, van Santen-Verheuvél MG, Dam-Deisz WD, Boshuizen HC, et al.: High prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in pigs. Vet Microbiol 2007: 122(3-4): 366-372.

14. Devriese LA, Van Damme LR, Fameree L: Methicillin (cloxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis cases. *Zentralbl Veterinarmed B* 1972; 19(7): 598-605.
15. Friese A, Schulz J, Hoehle L, Fetsch A, Tenhagen BA, Hartung J, et al.: Occurrence of MRSA in air and housing environment of pig barns. *Vet Microbiol* 2012; 158(1-2): 129-135.
16. Gill JJ, Hyman P: Phage choice, isolation, and preparation for phage therapy. *Curr Pharm Biotechnol* 2010; 11(1): 2-14.
17. Graveland H, Duim B, van Duijkeren E, Heederik D, Wagenaar JA: Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals and humans. *Int J Med Microbiol* 2011; 301(8): 630-634.
18. Guardabassi L, O'Donoghue M, Moodley A, Ho J, Boost M: Novel lineage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Hong Kong. *Emerg Infect Dis* 2009; 15(12): 1998-2000.
19. Huber H, Koller S, Giezendanner N, Stephan R, Zweifel C: Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in humans in contact with farm animals, in livestock, and in food of animal origin, Switzerland, 2009. *Euro Surveill* 2010; 15(16).
20. Huijsdens XW, van Dijke BJ, Spalburg E, van Santen-Verheuvél MG, Heck ME, Pluister GN, et al.: Community-acquired MRSA and pig-farming. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2006; 5: 26.
21. IV VDB, BA VANC, Haenen A, Broens EM, PJ VDW, MJ VDB, et al.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in people living and working in pig farms. *Epidemiol Infect* 2009; 137(5): 700-708.
22. Khanna T, Friendship R, Dewey C, Weese JS: Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* colonization in pigs and pig farmers. *Vet Microbiol* 2008; 128(3-4): 298-303.
23. Leung CYJ, Weitz JS: Modeling the synergistic elimination of bacteria by phage and the innate immune system. *J Theor Biol* 2017; 429: 241-252.
24. Lewis HC, Molbak K, Reese C, Aarestrup FM, Selchau M, Sorum M, et al.: Pigs as source of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 infections in humans, Denmark. *Emerg Infect Dis* 2008; 14(9): 1383-1389.
25. Loc-Carrillo C, Abedon ST: Pros and cons of phage therapy. *Bacteriophage* 2011; 1(2): 111-114.
26. Malik DJ, Sokolov IJ, Vinner GK, Mancuso F, Cinquerrui S, Vladislavljevic GT, et al.: Formulation, stabilisation and encapsulation of bacteriophage for phage therapy. *Adv Colloid Interface Sci* 2017; 249: 100-133.
27. Matsuzaki S, Yasuda M, Nishikawa H, Kuroda M, Ujihara T, Shuin T, et al.: Experimental protection of mice against lethal *Staphylococcus aureus* infection by novel bacteriophage phi MR11. *J Infect Dis* 2003; 187(4): 613-624.

28. Meemken D, Blaha T, Tegeler R, Tenhagen BA, Guerra B, Hammerl JA, et al.: Livestock associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LaMRSA) isolated from lesions of pigs at necropsy in northwest Germany between 2004 and 2007. *Zoonoses Public Health* 2010; 57(7-8): e143-148.
29. Mody L, Kauffman CA, McNeil SA, Galecki AT, Bradley SF: Mupirocin-based decolonization of *Staphylococcus aureus* carriers in residents of 2 long-term care facilities: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Infect Dis* 2003; 37(11): 1467-1474.
30. Perez Pulido R, Grande Burgos MJ, Galvez A, Lucas Lopez R: Application of bacteriophages in post-harvest control of human pathogenic and food spoiling bacteria. *Crit Rev Biotechnol* 2016; 36(5): 851-861.
31. Pletinckx LJ, Dewulf J, De Bleecker Y, Rasschaert G, Goddeeris BM, De Man I: Effect of a disinfection strategy on the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 prevalence of sows, their piglets and the barn environment. *J Appl Microbiol* 2013; 114(6): 1634-1641.
32. Schmelcher M, Shen Y, Nelson DC, Eugster MR, Eichenseher F, Hanke DC, et al.: Evolutionarily distinct bacteriophage endolysins featuring conserved peptidoglycan cleavage sites protect mice from MRSA infection. *J Antimicrob Chemother* 2015; 70(5): 1453-1465.
33. Schulz J, Friese A, Klees S, Tenhagen BA, Fetsch A, Rosler U, et al.: Longitudinal study of the contamination of air and of soil surfaces in the vicinity of pig barns by livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Appl Environ Microbiol* 2012; 78(16): 5666-5671.
34. Smith TC, Male MJ, Harper AL, Kroeger JS, Tinkler GP, Moritz ED, et al.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strain ST398 is present in midwestern U.S. swine and swine workers. *PLoS One* 2009; 4(1): e4258.
35. Tenhagen BA, Fetsch A, Stuhrenberg B, Schleuter G, Guerra B, Hammerl JA, et al.: Prevalence of MRSA types in slaughter pigs in different German abattoirs. *Vet Rec* 2009; 165(20): 589-593.
36. Van Cleef BA, Broens EM, Voss A, Huijsdens XW, Zuchner L, Van Benthem BH, et al.: High prevalence of nasal MRSA carriage in slaughterhouse workers in contact with live pigs in The Netherlands. *Epidemiol Infect* 2010; 138(5): 756-763.
37. van Cleef BA, Verkade EJ, Wulf MW, Buiting AG, Voss A, Huijsdens XW, et al.: Prevalence of livestock-associated MRSA in communities with high pig-densities in The Netherlands. *PLoS One* 2010; 5(2): e9385.
38. van Duijkeren E, Ikawaty R, Broekhuizen-Stins MJ, Jansen MD, Spalburg EC, de Neeling AJ, et al.: Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains between different kinds of pig farms. *Vet Microbiol* 2008; 126(4): 383-389.
39. Vandenheuvel D, Lavigne R, Brussow H: Bacteriophage Therapy: Advances in formulation strategies and human clinical trials. *Annu Rev Virol* 2015; 2(1): 599-618.

40. Verhegghe M, Crombe F, De Man I, Haesebrouck F, Butaye P, Heyndrickx M, et al.: Preliminary study of the effect of sow washing, as performed on the farm, on livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin status and strain diversity. *Journal of Swine Health and Production* 2013: 21(6): 313-319.
41. Verhegghe M, Pletinckx LJ, Crombe F, Van Weyenberg S, Haesebrouck F, Butaye P, et al.: Cohort study for the presence of livestock-associated MRSA in piglets: effect of sow status at farrowing and determination of the piglet colonization age. *Vet Microbiol* 2013: 162(2-4): 679-686.
42. Verstappen KM, Tulinski P, Duim B, Fluit AC, Carney J, van Nes A, et al.: The effectiveness of bacteriophages against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 nasal colonization in pigs. *PLoS One* 2016: 11(8): e0160242.
43. Voss A, Loeffen F, Bakker J, Klaassen C, Wulf M: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerg Infect Dis* 2005: 11(12): 1965-1966.
44. Wagenaar JA, Yue H, Pritchard J, Broekhuizen-Stins M, Huijsdens X, Mevius DJ, et al.: Unexpected sequence types in livestock associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): MRSA ST9 and a single locus variant of ST9 in pig farming in China. *Vet Microbiol* 2009: 139(3-4): 405-409.
45. Weber-Dabrowska B, Jonczyk-Matysiak E, Zaczek M, Lobočka M, Lusiak-Szelachowska M, Gorski A: Bacteriophage procurement for therapeutic purposes. *Front Microbiol* 2016: 7: 1177.
46. Weese JS, Zwambag A, Rosendal T, Reid-Smith R, Friendship R: Longitudinal investigation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in piglets. *Zoonoses Public Health* 2011: 58(4): 238-243.

## **Verdankungen**

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, herzlich bedanken:

Herrn Prof. Dr. med. vet. Xavier Sidler für die Überlassung des interessanten Themas, die stete Hilfsbereitschaft sowie die wertvollen Ratschläge und Anregungen bis zur Fertigstellung der Arbeit.

Dem Bundesamt für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen (BLV) sowie dem Bundesamt für Landwirtschaft (BLW) für die finanzielle Unterstützung des Projektes.

Allen Mitarbeitern der Abteilung für Schweinemedizin für die Hilfe bei der Probeentnahme, die wertvollen Ratschläge und die moralische Unterstützung während der gesamten Zeit.

Herrn Prof. Dr. med. vet. Dr. h. c. Roger Stephan für die Einführung und Hilfe während der Laborarbeit sowie seinen Mitarbeitern, welche mir bei Fragen immer hilfreich zur Seite gestanden sind.

Herrn Samuel Ritter für die Möglichkeit der Durchführung der Studie in seinem Betrieb sowie für seine Unterstützung.

Meinen Eltern, die mir das Studium ermöglicht haben und mir stets zur Seite stehen sowie meiner besten Freundin Tanja Meli.

## **Anhang: Feldversuch mit Steriplant N®**

### **Einleitung**

Da der Einsatz eines Bakteriophagencocktails LA-MRSA ST398 nicht zu eliminieren vermag, wurde in zwei Vorversuchen die Vernebelung und die Zugabe von Na-Hypochlorid und weiteren Oxydanten zum Trinkwasser zur Verringerung resp. zur Eradikation von MRSA im Feld geprüft.

### **Material und Methoden**

#### **Betriebsauswahl**

Siehe auf Seite 5 unter Material und Methoden.

#### **Steriplant-Herstellung**

Das von der Firma Swiss Steriplant hergestellte Desinfektionsmittel Steriplant N® aus Wasser kann ganz ohne Nebenwirkungen körperfremde Bakterien, Viren und Mikroorganismen entladen und somit unschädlich machen.

Die Produktion von Steriplant N® erfolgt durch ein speziell entwickeltes ECA-Verfahren (elektrochemisch aktiviertes Wasser). Gegenüber herkömmlichen 2-Kammer ECA-Anlagen wird Steriplant N® mittels neuem Mehrkammer-System produziert, welches entscheidende Auswirkungen auf die Produkt-Qualität, die chemische Zusammensetzung und deren Anwendungen hat. Die Produktion im Mehrkammer-System gewährleistet zudem die Verhinderung von Korrosionsgefahr. Steriplant N® weist ein Redoxpotential  $> 900 \text{ mV}$  auf und hat einen neutralen pH-Wert von 6.8 bis 7.2.

Das Verfahren ist in der Lage, Wasser mit speziellen Spannungen und Strömen in seine Bestandteile zu zerlegen, wobei die molekularen Wasserstoffbrücken aufgebrochen werden. Der entstehende hohe Gasdruck ermöglicht dem Produkt über osmotische Vorgänge durch Zellwände zu dringen. Wichtig für die Abtötung von pathogenen Keimen sind die elektrischen Potenziale: gleiche Potenziale stoßen sich ab, ungleiche ziehen sich an (Ladungsaustausch).

Durch den bei der Elektrolyse entstehenden hohen Gasdruck können geladene mikrofeine Gasbläschen über osmotische Vorgänge die Zellmembranen pathogener Keime durchdringen und somit die statische Ladung der Membran aufheben, so dass sie kollabiert und somit unschädlich wird.

## Probenverarbeitung im Labor

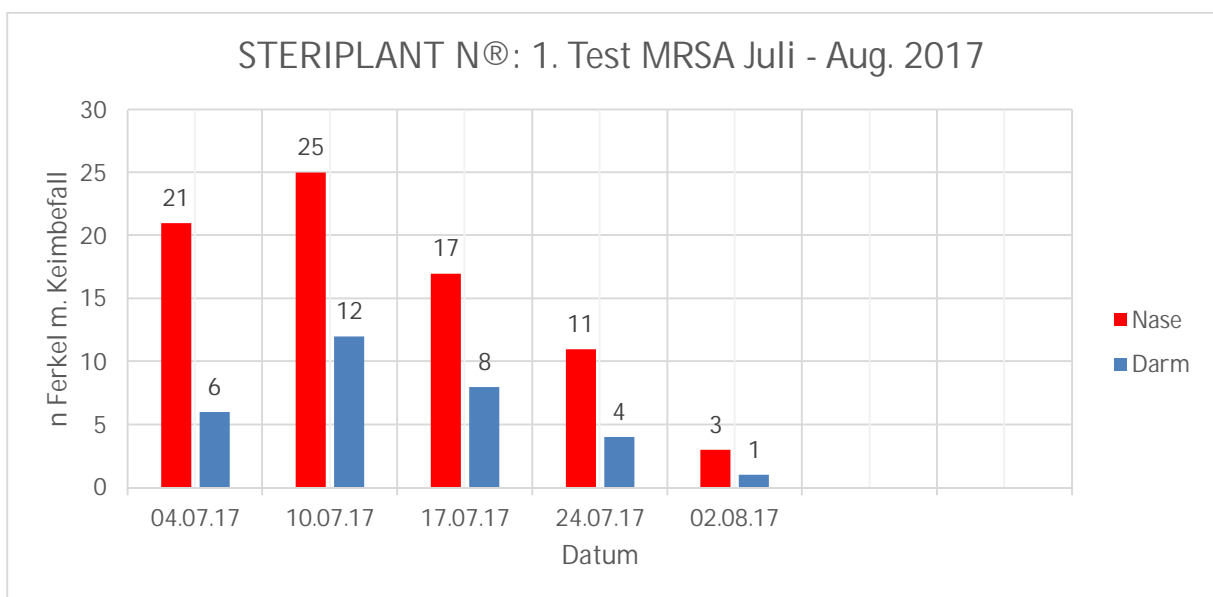
Siehe Seite 6 unter Material und Methoden.

### Vorgehen Durchgänge 1 und 2

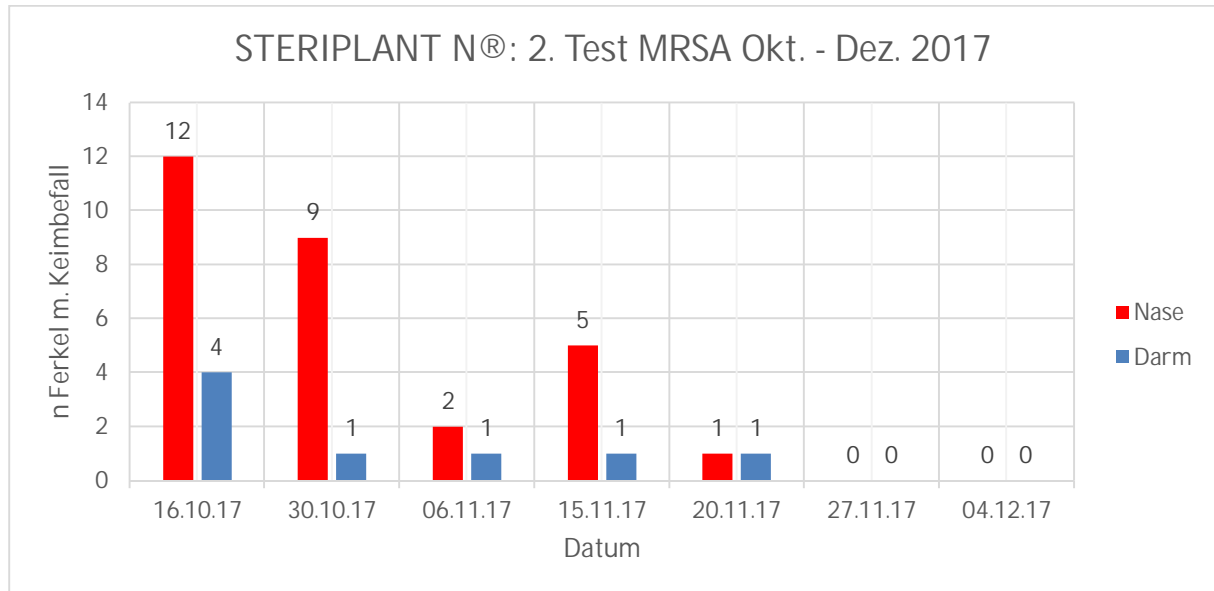
Im ersten Durchgang wurden 36 Absetzferkel in einen kontrolliert MRSA-negativen Absonderungsstall eingestallt, während im zweiten Durchgang 39 Saugferkel zwei Mal in der Sägezeit auf das Vorhandensein von MRSA untersucht wurden. Danach wurden diese ebenfalls in einen kontrolliert MRSA-negativen Absonderungsstall eingestallt. Bei beiden Durchgängen wurden die Absetzferkel bis zum Verkauf in die Mast wöchentlich mittels Nasen- und Rektaltupfer beprobt. Im zweiten Durchgang wurden zusätzlich auch noch Umgebungsproben entnommen. Steriplant N<sup>®</sup> wurde via Dosatron<sup>®</sup> in einer Konzentration von 3% dem Trinkwasser zugeführt. Zusätzlich wurde der Raum 2-mal täglich während 10 Minuten mit einer „ZELJET Trolley“ Vernebelungs-Anlage vernebelt. Im Durchgang 1 mit reinem Steriplant N<sup>®</sup>, im Durchgang 2 in einer Konzentration von 50% Steriplant N<sup>®</sup> vermischt mit 50% Leitungswasser.

## Resultate

Im Durchgang 1 waren am Tag des Absetzens 23/36 Ferkel mit MRSA kolonisiert. In der folgenden Woche kam es zu einem geringen Anstieg auf 27 MRSA-positive Ferkel, danach nahm die Anzahl jedoch stetig ab. Ein Monat nach dem Absetzen waren noch 4 Ferkel mit MRSA kolonisiert.



Im Durchgang 2 waren kurz nach der Geburt 12/39 Saugferkel mit MRSA kolonisiert. Beim Absetzen 3 Wochen später wurden noch 3 Ferkel auf MRSA getestet. Dieser Rückgang erfolgte jedoch noch vor dem Beginn der Steriplant N<sup>®</sup>-Behandlung. In der darauffolgenden Woche stieg die Anzahl MRSA-positiver Ferkel wieder an auf 6. Zwei Wochen vor dem Verkauf in die Mast war keines der Ferkel mehr mit MRSA kolonisiert.



## Diskussion

In beiden Versuchsdurchgängen führte die Vernebelung und die Zugabe von Steriplant N<sup>®</sup> zum Trinkwasser zu einer signifikanten Reduktion resp. im 2. Durchgang zu einer Elimination von MRSA bei den Versuchstieren. Da dieser Versuch im selben Betrieb im Anschluss an den Bakteriophagenversuch erfolgte und in Umgebungstupfern eine grosse Anzahl von Bakteriophagen des eingesetzten Bakteriophagencocktails nachgewiesen werden konnten, kann die Reduktion resp. Elimination nicht mit 100%-iger Sicherheit Steriplant N<sup>®</sup> zugeschrieben werden. Es ist vorgesehen, die Wirkung von Steriplant N<sup>®</sup> in weiteren Feldversuchen und in andern Problembetrieben zu testen.



## Curriculum Vitae

Name	Julia Honegger
Geburtsdatum	03.10.1990
Geburtsort	Niederuzwil SG
Nationalität	Schweiz
Heimatort	Mels SG

### Schulausbildung

08/1997 – 07/2003	Primarschule Pfäffikon SZ, Schweiz
08/2003 – 07/2005	Sekundarschule Freienbach SZ, Schweiz

### Höchster

#### Schulabschluss

08/2005 – 07/2009	Kantonsschule Ausserschwyz Pfäffikon SZ, Schweiz
-------------------	--

### Studium

09/2009 – 08/2015	Veterinärmedizin, Universität Zürich, Schweiz
01/2016	<b>Abschluss vet. med.</b> (Universität Zürich, Schweiz)

### Anfertigung der Dissertation

03/2016 – 04/2018	Anfertigung der Dissertation unter der Leitung von Prof. Dr. med. vet. Xaver Sidler, Leitung Abteilung für Schweinemedizin, Departement für Nutztiere, Direktor: Prof. Dr. med. vet. Heiner Bollwein, Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich, Schweiz
-------------------	--

### Alle fachrelevanten Anstellungen nach Abschluss des veterinärmedizinischen

**Studiums** bis zum Einreichen der Dissertation in chronologischer Reihenfolge

03/2016 – 04/2018	Assistenz Schweinemedizin, Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich, Schweiz
-------------------	--